

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2000-072749

(43)Date of publication of application : 07.03.2000

(51)Int.Cl.

C07D215/20

A61K 31/47

A61K 31/495

(21)Application number : 10-237713

(71)Applicant : MITSUI CHEMICALS INC

(22)Date of filing : 24.08.1998

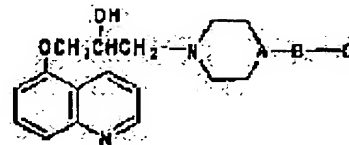
(72)Inventor : OKAZAKI TOSHIKI  
FUKAZAWA NOBUYUKI

## (54) APOPTOSIS-INDUCING AGENT USING QUINOLINE DERIVATIVE

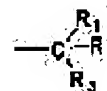
## (57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a safe and highly effective apoptosis-inducing agent having an apoptosis-inducing action and an apoptosis induction-reinforcing action and useful as an agent for preventing or treating cancers, etc., by using a specific quinoline derivative.

SOLUTION: This apoptosis-inducing agent contains a quinoline derivative of formula I [A is N or C; B is C=O or (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> [(m) is 0-3] which is a direct bond; C is a group of formula II (R<sub>1</sub>-R<sub>3</sub> are each H or phenyl) or the like] or its biologically acceptable salt, for example, dl-5-[3-[4-(2,2-diphenylacetyl) piperazin-1-yl]-2-hydroxypropyl]quinoline fumarate. The apoptosis-inducing agent is preferably administered, for example, at a daily dose of 1-2,000 mg with one to several portions as the quinoline derivative.



I



II

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-72749

(P2000-72749A)

(43) 公開日 平成12年3月7日(2000.3.7)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テマコード <sup>*</sup> (参考)
C 0 7 D 215/20		C 0 7 D 215/20	4 C 0 3 1
A 6 1 K 31/47	ADS	A 6 1 K 31/47	4 C 0 8 6
31/495		31/495	
	ABA		ABA
	ABG		ABG
審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 6 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願平10-237713

(22) 出願日 平成10年8月24日(1998.8.24)

(71) 出願人 000005887

三井化学株式会社

東京都千代田区霞が関三丁目2番5号

(72) 発明者 岡崎 俊朗

京都府京都市左京区修学院登り内町77-3

(72) 発明者 深澤 信幸

千葉県茂原市東郷1144番地 三井化学株式会社内

Fターム(参考) 4C031 DA05

4C086 AA01 BC28 MA01 MA04 NA05

NA14 ZA45 ZA81 ZB07 ZB15

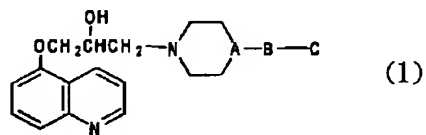
ZB21 ZB26 ZB27 ZB33 ZC75

## (54) 【発明の名称】 キノリン誘導体を用いるアポトーシス誘導剤

## (57) 【要約】

【課題】 細胞内セラミドの濃度を上昇させる事によるアポトーシス誘導作用又はアポトーシス誘導増強作用を有し、癌、リウマチ、SLE等の自己免疫疾患、動脈硬化、各種腎炎、ウィルス等の各種感染症に対し有効で安全性の高い医薬組成物を提供する。

【解決手段】 下記一般式(1)で示されるキノリン誘導体またはその生物学的に許容される塩を用いることを特徴とするアポトーシス誘導剤およびアポトーシス誘導増強剤。



【効果】 本発明によるアポトーシス誘導剤は、それ単独または、制癌剤、各種免疫抑制剤、放射線、各種サイトカインなどの刺激剤との併用によって癌、リウマチ、SLE等の自己免疫疾患、動脈硬化、各種腎炎、ウィルス等の各種感染症等に有効かつ安全性の高い薬剤であ

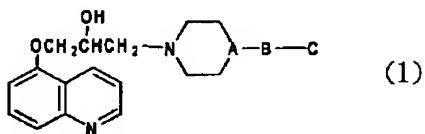
る。よってこれらの医療領域で新しい治療法を提供し、有益性が高い。

1

【特許請求の範囲】

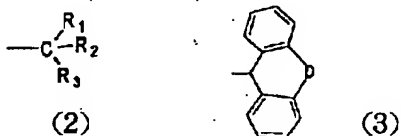
【請求項1】 下記一般式(1)(化1)

【化1】



〔式中、Aは窒素原子、または炭素原子を表し、Bは直接の結合であるC=Oまたは-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>- (mは0

【化2】



〔式中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>は互いに独立して、水素原子またはフェニル基をDは-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>- (nは0~3の

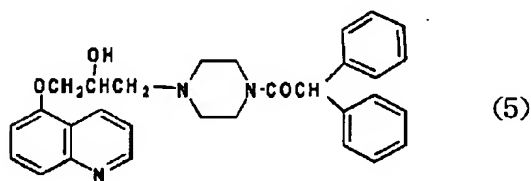
【化3】



〔式中、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>はお互いに独立して、水素原子またはハロゲン原子を表す。〕を表す。〕で示されるキノリン誘導体またはその生物学的に許容される塩を含有することを特徴とするアポトーシス誘導剤。

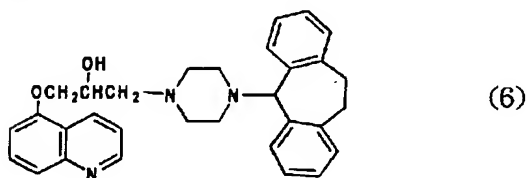
【請求項2】 キノリン誘導体が下記式(5)(化4)で表される化合物である請求項1に記載のアポトーシス誘導剤。

【化4】



【請求項3】 キノリン誘導体が下記式(6)(化5)で表される化合物である請求項1に記載のアポトーシス誘導剤。

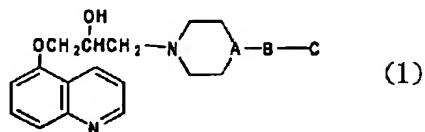
【化5】



2

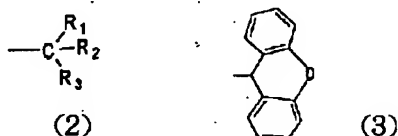
【請求項4】 下記一般式(1)(化6)

【化6】



〔式中、Aは窒素原子、または炭素原子を表し、Bは直接の結合であるC=Oまたは-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>- (mは0

【化7】



〔式中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>は互いに独立して、水素原子またはフェニル基をDは-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>- (nは0~3の

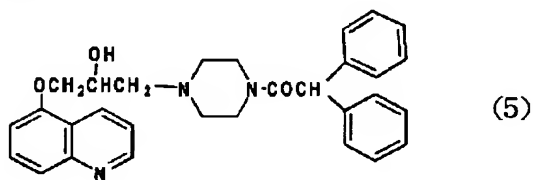
【化8】



〔式中、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>はお互いに独立して、水素原子またはハロゲン原子を表す。〕を表す。〕で示されるキノリン誘導体またはその生物学的に許容される塩を含有することを特徴とするアポトーシス誘導増強剤。

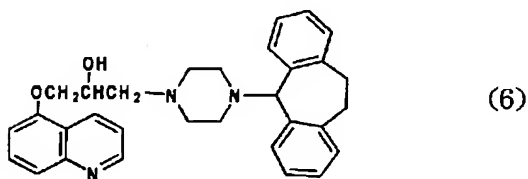
【請求項5】 キノリン誘導体が下記式(5)(化9)で表される化合物である請求項4に記載のアポトーシス誘導増強剤。

【化9】



【請求項6】 キノリン誘導体が下記式(6)(化10)で表される化合物である請求項4に記載のアポトーシス誘導増強剤。

【化10】



50 【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、癌やリウマチ、全身性エリテマトーデス（SLE）等の自己免疫疾患、動脈硬化症、各種腎炎さらにはウイルス感染症等に広範にみられる細胞増殖を伴う病態に対する新しい治療剤、詳しくはアポトーシス誘導剤およびアポトーシス誘導増強剤に関する。

【0002】

【従来の技術】アポトーシスは、細胞死の1つの形態で、細胞増殖制御系の中に組み込まれた情報に従って生理的プロセスとして死んでいく細胞死であり、通常の受動的な外因性の死であるネクローシスとは区別される。アポトーシスは、細胞核内の染色体の凝集、染色体DNAの断片化等の生理的、生化学的变化を伴うことが特徴である。このアポトーシスは、発生過程での形態、組織形成時のプログラム細胞死にみられる発生過程の不必要な細胞の除去機能に関わっている。さらには、生体のホメオスタシス維持のための機能は、細胞の増殖とアポトーシスの2つの過程によってバランスが取られ、生体の恒常性が維持されている。また、細胞内外からの侵襲によるダメージを受けた細胞の除去を行う生体防御機能もアポトーシスが有している。このようにアポトーシスは生物固体の成長と恒常性維持には不可欠で、生体内では、非常に複雑な情報伝達系によって制御されている。

【0003】近年、このアポトーシスの細胞内情報伝達に関する生体内物質としてスフィンゴ脂質が注目されている。スフィンゴ脂質は、グリセロリン脂質などと共に細胞膜の構成成分であり、その構造は、セラミドに糖鎖あるいはホスホコリンなどが結合したものである。最近の研究において、セラミドがアポトーシス誘導のメッセンジャー物質として中心的な役割を担っていることが判明した。すなわち、TNF $\alpha$ 、Fas、放射線、抗癌剤などのアポトーシス誘導刺激によりセラミドが増加すること、また、このセラミドによりアポトーシスが誘導されることなどが報告されている（Hannun, Y.A.: Science, Vol. 274, p. 1885 (1996), Okazaki, T. et al.: J. Biol. Chem., Vol. 264, p. 19076, (1989), 岡崎、他 実験医学, Vol. 15, p. 1488, (1997)）。さらには、癌化学療法で大きな問題となっている多剤耐性の機構の1つとしてもこのセラミド代謝系の関与が云われている。

【0004】一方、医療の面からこのアポトーシスをみると、アポトーシス抑制に関わると思われる疾患では、細胞増殖を伴う各種疾病すなわち癌、リウマチ、SLE等の自己免疫疾患、動脈硬化、各種腎炎、ウイルス感染症等の疾患が考えられ、反対にアポトーシスの促進に関わる疾患としては、AIDS等のウイルス疾患、アルツハイマー病やパーキンソン病のような神経変性疾患、脳虚血、心筋梗塞、貧血等の血液循環器疾患、中毒性またはアルコール性肝炎等が考えられる。

【0005】上記の概念から多くのアポトーシス誘導剤

の探索が行われている。制癌剤の一部にアポトーシス誘導作用のあることはよく知られているが、その作用の程度や薬効との関係は殆ど解明されていない。またこれら薬剤は毒性が強く、上記した広範な疾患に対しては、実際には使用困難で、さらに良好な薬剤が望まれている。

【0006】即ち、これらの制癌剤は上記した広範な疾患に対しては、実際には使用困難で、現在まで広範な疾患に適用できる安全で効果の強いアポトーシス誘導体は知られていない。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】本発明の課題は、アポトーシス誘導作用又はアポトーシス誘導増強作用を有し、安全で効果の高い医薬組成物を提供することにある。

【0008】本発明の目的は、アポトーシス誘導作用またはアポトーシス誘導増強作用を有する医薬組成物を提供することであり、該組成物は癌、リウマチ、SLE等の自己免疫疾患、動脈硬化、各種腎炎、ウイルスなどの各種感染症等の予防または治療剤であり、または、アポトーシス誘導作用を持った既存の薬物さらにはUVや各種サイトカインなどのアポトーシス刺激剤と組み合わせることによる上記疾患に対する該薬剤および該刺激剤の誘導増強剤である。

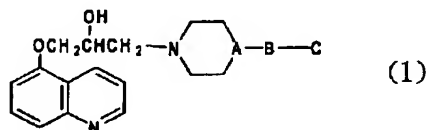
【0009】

【課題を解決するための手段】選択的なアポトーシスの誘導は、細胞増殖を伴う各種疾患の予防薬または治療薬として期待されるが、本発明者等は、このアポトーシス誘導作用を前に示したように細胞内のセラミド量を測定すること、また直接核の形態を観察することにより評価した。すなわち、アポトーシス誘導作用が確実に正確に評価できるヒト白血病細胞株HL60またはその多剤耐性亜株を用い、アポトーシス刺激剤である、ダウノマイシン、アドリマイシン、タキソール等の制癌剤、サイトカインの1つであるTNF $\alpha$ さらには紫外線等で処理した際の、セラミド量、細胞核の変性を指標に多くの化合物を鋭意評価検討した。その中で、本発明に係るキノリン誘導体が、細胞内セラミドを著明に増進させ、強いアポトーシス誘導作用を有することを見出し、本発明を完成させた。

【0010】すなわち本発明は、下記一般式（1）（化11）

【0011】

【化11】

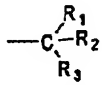


【式中、Aは窒素原子、または炭素原子を表し、Bは直接の結合であるC=Oまたは-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>- (mは0

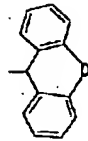
～3の整数)を表し、Cは、式(2)又は式(3)(化12)

[0012]

[化12]



(2)



(3)

(式中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>は互いに独立して、水素原子またはフェニル基をDは-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>- (nは0～3の整数)、-CH=CH-、又は式(4)(化13)



(4)

[0013]

[化13](式中、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>はお互いに独立して、水素原子またはハロゲン原子を表す。)を表す。)を表す。]で示されるキノリン誘導体またはその生物学的に許容される塩を含有することを特徴とするアポトーシス誘導剤およびアポトーシス誘導増強剤である。

[0014]

【発明の実施の形態】以下に本発明をさらに詳しく説明する。本発明に係るキノリン誘導体は、深澤、鈴木等により特開平3-101662号公報、特開平6-1768号公報、J.Med.Chem.Vol.40,p.2047,(1997).等の開示された化合物であり、p-糖蛋白の働きを抑制することで耐性癌の耐性克服作用を示すことが知られている。しかし、これら報告にはアポトーシス誘発作用には何ら言及はなく、対象疾患も癌領域のみで、制癌剤との併用による耐性克服作用であり、本発明とは基本的に概念を異にするものである。

[0015]本発明に係るキノリン誘導体は一般式

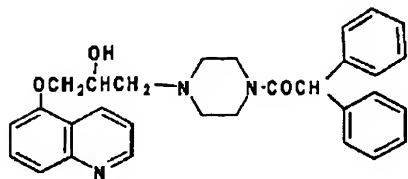
(1)に示した化合物であり、本発明においてはその生物学的に許容される塩も効果を有するものとして発明の範疇に含まれる。

[0016]本発明に係るキノリン誘導体は一般式

(1)の代表的な化合物は、式(5)(化14)で表される化合物(フマル酸塩はMS-209と呼ぶこともある)。

[0017]

[化14]

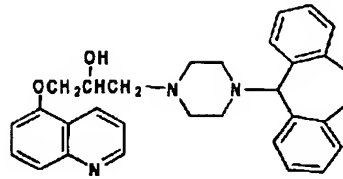


(5)

又は式(6)(化15)で表される化合物である。

[0018]

[化15]



(6)

【0019】尚、本発明において、ハロゲン原子とは、フッ素原子、塩素原子、臭素原子またはヨウ素原子を表し、生物学的に許容される塩としては特に限定はされないが、塩酸、硫酸等の無機酸、または酢酸、シュウ酸、フマル酸、マレイン酸、酒石酸等の有機酸による塩が挙げられる。また、本発明化合物は不斉炭素有し、光学異性体が存在するが、当然これら異性体すべてを本特許は包含する。

【0020】本発明の組成は臨床適用される場合、それ単独で誘導剤として、または既存薬剤と併用して誘導増強剤として投与される。投与方法としては、経口的または非経口的に投与する事が可能である。

【0021】併用する既存薬剤としては、制癌剤であれば特に制限はないが、アドリアマイシン、ダウノマイシン、アクラシノマイシンA等のアンスラサイクリン系抗生物質、アクチノマイシンC、アクチノマイシンC等のアクチノマイシン系抗生物質、ピンクリスチン、ビンブラスチン等のピンカアルカロイド系物質、フルオロウラシル、カルモフル、テガフル、フルツロン、メソトレキセート等の代謝拮抗剤、タキソール、タキソテール等のタキサン誘導体、シスプラチン、カルボプラチン等の白金製剤、さらには、エトポシド、ネオカルチノスタチン、マイトマイシンC、ナベルピン、等広範な制癌剤が使用される。制癌剤以外にも、アレルギー薬、リウマチ薬等の自己免疫疾患治療薬、抗生物質、化学療法剤、抗ウィルス剤、腎疾患治療薬、抗炎症剤等広範な薬物の効果増強作用が期待される。

【0022】キノリン誘導体としての投与量は投与対象患者の症状、年齢、性別等により異なるが、成人1日あたり1から2000mgであり、この量を1日に1回または数回に分けて投与する。

【0023】経口的に投与する場合は、錠剤、顆粒剤、散剤、懸濁剤、カプセル剤、シロップ剤等の剤形が可能である。例えば、錠剤とする場合には、吸着剤として結晶性セルロース、軟質無水ケイ酸等を、賦形剤としては、トウモロコシデンプン、乳糖、リン酸カルシウム、結晶性セルロース等を、また必要に応じて結合剤、保湿剤、滑沢剤等を用いることが出来る。

【0024】非経口的に投与する場合は、静脈注射剤、皮下注射剤、筋肉注射剤、座剤、経皮剤等の形態が可能である。例えば、注射剤とする場合は、化合物を等張化、無菌化等を施した水溶液または綿実油、トウモロコ

シ油、オリーブ油等を用いた懸濁性水溶液、あるいはHCO-60等の界面活性剤を用いた乳濁液として使用される。また、本発明化合物は急性毒性がラット、イヌで経口的にLD50が1000mg/kg以上と極めて低毒性であり、安全性の高い有用な薬剤である。

【0025】

【実施例】以下に実施例を用いて本発明を詳しく説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。

【0026】実施例1 セラミド増加作用

(1) 方法：本発明化合物の代表としてd1-5-[3-10 {4-(2,2-ジフェニルアセチル)ピペラジニ-1-イル}-2-ヒドロキシプロピル]キノリンのフマル酸塩(MS-209)を用いた。他の化合物においても以下に示すと同様な結果が得られた。

【0027】ヒト白血病細胞株HL60のピンクリスチン耐性株を10%牛胎児血清含有RPMI1640培地にて5%CO<sub>2</sub>下培養し、実験前日に牛胎児血清を2%に変更して使用した。本細胞の培地中に最終薬物濃度がダウノマイシンは3μMに、MS-209は10μM濃度になるよう調製し実験した。薬物添加後6時間での細胞内セラミド量を以下のように測定した。まず、遠心分離した細胞から、BlighとDyerの常法(Can.J.Biochem.Physiol.Vol.37,P.911,(1959))により脂質を抽出した。次にE.coliのdiacylglycerol kinaseを用いて、抽出した脂質中のセラミドを<sup>32</sup>P-ATPでラベルしTLCで分離した。資料中のセラミド含量は既知量のセラミドを同様にラベルした対照と比較定量し、細胞内リン脂質量で標準化した。

(2) 結果：結果を表1(表1)に示す。ダウノマイシンは、一般的にはセラミド量を増加させることが知られているが、HL60ピンクリスチン耐性株では細胞内セラミド量に影響を与えなかった。MS-209は、単独で同細胞株のセラミド量を約3倍に増加させ、ダウノマイシンと共存させると約5倍の増加を認めた。\*

表2 HL60wildによるUV刺激時のアポトーシス作用

薬物	濃度 (μM)	アポトーシス誘発細胞数 (%)
コントロール		6.3
MS-209	5 μM	6.4
UV (照射)	5 秒間	14.0
MS-209	5 μM	30.0
+UV (照射)	5 秒間	

【0031】実施例3 アポトーシス誘導作用(TNFα刺激時)

(1) 方法：薬物としてはMS-209、刺激剤としてはサイトカインの1つであるTNFαを使用して以下の実験を行った。すなわち、ヒト白血病細胞株HL60w

\*【0028】

【表1】

表1 HL60vincにおけるセラミド増加作用

薬物	濃度 (μM)	セラミド量 (pmol/nmolP)
コントロール	-	9.0
ダウノマイシン	3 μM	9.1
MS-209	10 μM	26.4
ダウノマイシン	3 μM	47.3
+MS-209	10 μM	

【0029】実施例2 アポトーシス誘導作用(UV刺激時)

(1) 方法：薬物としてはMS-209、刺激剤としてはUVを使用して以下の実験を行った。すなわち、ヒト白血病細胞株HL60wild株を10%牛胎児血清含有RPMI1640培地にて5%CO<sub>2</sub>下培養し、実験前日に牛胎児血清を5%に変更して使用した。MS-209は最終濃度が10μMとなるよう調節し、UV照射は5秒間とした。それぞれ単独および併用時のUV照射後1時間後の細胞をグルタルアルデヒド固定し、2μg/ml DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride)で核を染色し、蛍光顕微鏡観察によりクロマチン凝集像を示す核の割合を測定した。1回の測定では100個の核を観察し、平均で表した。

(2) 結果：結果を表2(表2)に示す。UVとMS-209併用群でアポトーシスを起こした細胞数が大いに増加しており、本発明化合物のアポトーシス誘導作用が示された。

【0030】

【表2】

ild株を10%牛胎児血清含有RPMI1640培地にて5%CO<sub>2</sub>下培養し、実験前日に牛胎児血清を5%に変更して使用した。MS-209は最終濃度が10μMとなるよう、TNFαは最終濃度が200ng/mlとなるよう調節し、それぞれ単独および併用時の薬剤処

理後3時間後の細胞をグルタルアルデヒド固定し、 $2\mu\text{g}/\text{ml}$  DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride) で核を染色し、蛍光顕微鏡観察によりクロマチン凝集像を示す核の割合を測定した。1回の測定では100個の核を観察し、平均で表した。

(2) 結果：結果を表3 (表3) に示す。MS-209\*

表3 HL60wildによるTNF $\alpha$ 刺激時のアポトーシス作用

薬物	濃度 ( $\mu\text{M}$ )	アポトーシス誘発細胞数 (%)
コントロール		8.1
MS-209	$10\mu\text{M}$	14.7
TNF $\alpha$	$200\text{ng}/\text{ml}$	22.0
MS-209	$10\mu\text{M}$	38.9
+TNF $\alpha$	$200\text{ng}/\text{ml}$	

\* 単独および併用でのアポトーシスを起こした細胞数の増加が認められており、MS-209のアポトーシス誘導作用が示された。

【0032】

【表3】

【0033】

【発明の効果】本発明のアポトーシス誘導剤は、アポトーシス抑制を解除する作用があり、癌、リウマチ、SL E等の自己免疫疾患、動脈硬化、各種腎炎、ウィルス感※

※ 染症等の予防薬または治療薬として期待される。本発明のアポトーシス誘導増強剤は、既存の治療薬または放射線、各種サイトカイン等のアポトーシス誘導刺激剤に対する効果増強作用を有する。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>

A61K 31/495

識別記号

ABX

ACV

ADU

F I

A61K 31/495

テーマコード (参考)

ABX

ACV

ADU